

**Histologische Untersuchungen
über das Abschlußgewebe und die Organanlage
an in vitro kultivierten Segmenten von *Cyclamen
persicum***

Inauguraldissertation
der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen

zur

Erlangung des Doktorgrades

vorgelegt von

MARGARETE KAUPPERT

aus Nürnberg

Stuttgart

Gustav Fischer Verlag

1958

**Histologische Untersuchungen
über das Abschlußgewebe und die Organanlage
an in vitro kultivierten Segmenten von *Cyclamen
persicum***

Inauguraldissertation
der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen

zur

Erlangung des Doktorgrades

vorgelegt von
MARGARETE KAUPPERT
aus Nürnberg

Stuttgart
Gustav Fischer Verlag

1958



Als Dissertation genehmigt von der
Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Erlangen

Tag der mündlichen Prüfung: 19. Februar 1958

Dekan: Universitätsprofessor Dr. R. FLEISCHMANN

Berichterstatter: Universitätsprofessor Dr. J. SCHWEMMLE

Berichterstatter: Privatdozent Dr. E. HAUSTEIN

Histologische Untersuchungen über das Abschlußgewebe und die Organanlage an in vitro kultivierten Segmenten von *Cyclamen persicum*

Aus dem Botanischen Institut der Universität Erlangen

Von

MARGARETE KAUPPERT

Mit 13 Abbildungen

Eingegangen am 1. März 1958

Einleitung

Für das Studium der Sproß- und Wurzelbildung an Gewebestücken hat sich das Knollengewebe von *Cyclamen persicum* als sehr günstiges Objekt erwiesen. Besonders die mit α -Naphthylelessigsäure durch L. MAYER ausgeführten Untersuchungen ließen die Ansprechbarkeit dieses Gewebes außerordentlich gut erkennen. Die Reaktion einer Versuchsreihe verlief nahezu hundertprozentig und lediglich durch Änderung der Wuchsstoffkonzentration konnten entweder Sprosse oder Wurzeln erzielt werden. Neben den Organen wurde dabei von den Segmenten auch stets ein Abschlußgewebe regeneriert, das für die weitere Aufzucht von entscheidender Bedeutung war, da es jegliche Sekundärinfektion verhinderte. Nachdem die bisherigen Versuche so günstig verlaufen waren, schien auch die Untersuchung dieses Abschlußgewebes in Abhängigkeit von verschiedenen Faktoren lohnend zu sein. Es war deshalb Aufgabe dieser Arbeit, alle mit der Entstehung dieses Abschlußgewebes in Zusammenhang stehenden Erscheinungen, insbesondere die möglicherweise vorhandene Abhängigkeit von verschiedenen Stoffen zu untersuchen, wobei besonders die Fragen der Phellogen- und Korkbildung und die Suberinisierungsvorgänge interessierten.

Herrn Privatdozent Dr. E. Haustein danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit und deren stete Förderung, sowie Herrn Professor J. Schwemmler und der Deutschen Forschungsgemeinschaft für Sachbeihilfen.

Material und Methode

Untersucht wurde das Parenchymgewebe der Hypokotylknollen von *Cyclamen persicum*. Die Methode der Gewebezüchtung ist in den Untersuchungen von L. MAYER genau beschrieben und wurde im großen und ganzen beibehalten. Beim Schneiden der Segmente wurde besonders darauf geachtet, alle kambialen und Leitungselemente in Fortfall zu bringen und Druckanwendung zu vermeiden, da sonst Änderungen im Verhalten des pflanzlichen Gewebes auftreten konnten. Aus Gründen der Einheitlichkeit verwendeten wir ausschließlich die Nährlösung nach Skoog, deren Wasserstoffionenkonzentration auf p_H 5 eingestellt wurde. Die Kulturen wurden im Glashaushaus bei einer Temperatur von durchschnittlich 20° C gehalten. In bestimmten Zeitabständen wurden von den Segmenten Schnitte angefertigt. Zur Untersuchung der Wundkorkbildung wurden der besseren Färbung wegen Handschnitte, für die Organbildungsversuche weitgehend Mikrotomschnittserien hergestellt. Wir wendeten dazu die in Johansen beschriebene Paraffin-tert. Butylalkohol-Methode an. Die Gewebestücke wurden vor dem Fixieren einmal durchschnitten und blieben mindestens 10 Tage lang in der Fixierflüssigkeit (Alkohol 96 % 100,0; Wasser 90,0; Formalin 5,0; Eisessig 5,0). Nach gründlichem Auswaschen in fließendem Leitungswasser wurden folgende Butylalkoholkonzentrationen, Einwirkdauer je eine Stunde, verwendet: 50, 70, 85, 90 und 100 %. Vor dem Übergehen in festes Paraffin (für die Histologie, Erstarrungspunkt 57–60° C, Bayer) wurden die Segmente noch eine Stunde in eine Mischung von gleichen Teilen Paraffin. liqu. und tert. Butylalkohol gebracht. Die Infiltration mit Paraffin. solid. bei 60° C unter zweimaligem Wechsel war nach 14 Tagen beendet. Zum Aufkleben der Schnitte wurde das Haupt'sche Adhäsivum verwendet. Als Paraffinlösungsmittel und Übergang zur Farblösung dienten folgende Mischungen: Xylol, Xylol-Alkohol 96 % 1:1, Alkohol 96 % — Äther 1:1, Alkohol 96 %, Alkohol 70 %, Wasser (Einwirkdauer je 10 Minuten). Zum Färben wurde eine 0,5 % ige wässrige Lösung von Sambesischwarz (Mader) verwendet (Einwirkdauer 12 Stunden). Anschließend wurden die Schnitte in Celodal eingeschlossen.

Für die Untersuchung des Korkgewebes an Handschnitten standen folgende Farbstoffe zur Wahl:

Sambesischwarz (0,5 % ige Lösung in Glycerin),

Sudan III (gesättigte alkoholische Lösung),

Gentianaviolettammoniak (nach Appel),

Chlorzinkjodlösung (Vorschrift nach DAB 6).

Ihre Färbekraft und ihr Differenzierungsvermögen wurde zunächst an natürlichem Korkgewebe von Cyclamenknollen untersucht. Das Periderm einer zweijährigen Knolle, deren äußerste Korkschicht durch das Dickenwachstum bereits gesprungen war, zeigte dabei in seinen einzelnen Schichten folgende Färbungsunterschiede: mit Sudan III färbte sich der gesamte Kork (etwa 15–20 Zellreihen) deutlich rot. Die

äußersten 5–10 Zellreihen wurden dabei auch im Lumen dunkelrot gefärbt, während von den nach innen zu liegenden nur die Zellwände gefärbt wurden. Gentianaviolett-ammoniak tingierte die äußeren 5–10 Zellreihen schwarzrot, die nach innen zu liegenden Korkzellen zeigten Violettfärbung. Chlorzinkjodlösung färbte den Außenkork dunkelbraun, die inneren Korkzellen gelb. Die beste Differenzierung ergab Sambesischwarz: der Außenkork wurde dunkelbraun gefärbt; die inneren Korkzellen zeigten Gelbfärbung, die nach außen zu schwächer wurde (die jüngsten, ungefähr 3–5 Korkzellreihen waren am intensivsten gefärbt), das Phellogen erschien violett, Parenchymgewebe wurde blau tingiert. Bei einer jungen Knolle, deren Kork erst 3–5 Zellreihen dick war, zeigten sämtliche Schichten entsprechend ihrem Alter dieselbe Färbung, wie sie bei den älteren Knollen die inneren Schichten aufwiesen.

Da sich bei diesen Vorversuchen Sambesischwarz als der geeignetste Farbstoff herausstellte, wurde er im folgenden fast ausschließlich benutzt.

Eigene Untersuchungen

Die einzelnen Teilprozesse, deren Gesamtheit zur Entstehung des Abschlußgewebes führten, sollen nun entsprechend ihres zeitlichen Ablaufs bzw. ihrer zeitlichen Aufeinanderfolge im einzelnen untersucht werden. Daran sollen die speziell im Hinblick auf die Korkbildung ausgeführten Versuche mit Chlorogensäure und schließlich noch die mit der Organbildung in Zusammenhang stehenden histologischen Erscheinungen angeschlossen werden.

1. Primärsuberinisierung der äußersten Zellschicht

Die äußerste Zellschicht der frisch geschnittenen Segmente wurde im allgemeinen bereits nach 9 Stunden suberinisiert. Diese schon äußerlich durch ihre Braunfärbung sichtbar werdende suberinisierte Schicht bildete damit ein erstes Abschlußgewebe und leitete die weiteren Regenerationsvorgänge ein. Da später auch die tiefer liegenden Zellschichten eine Suberinisierung erfahren, soll zur besseren Unterscheidung die Suberinisierung der äußersten Zellschicht als „Primärsuberinisierung“, die der tiefer liegenden Zellschichten als „Folgesuberinisierung“ bezeichnet werden. Die Segmente waren dabei bereits von sich aus, d. h. auch ohne Nährlösung schon fähig, diese Suberinschicht auszubilden, wenn die frischen Segmente z. B. in Petrischalen bei hinreichender Feuchtigkeit aufbewahrt wurden. Im folgenden wurde nun untersucht, ob und inwieweit die Primärsuberinisierung durch äußere Faktoren bzw. durch Zusätze zum Nährmedium beeinflussbar ist.

Um die Zeitspanne der ersten sichtbaren Suberinisierung festzustellen, wurde eine Reihe von Segmenten bei einer Temperatur von 20° C in Petrischalen gehalten, deren

Deckel zur Verhütung des Eintrocknens der Gewebestücke mit feuchter Watte oder Filterpapier ausgekleidet waren. Nach dem Zurechtschneiden der Segmente wurden jede Stunde Handschnitte angefertigt, die mit Sambesischwarzglyzerin gefärbt wurden. Die erste erkennbare Suberinfärbung trat dabei nach 9 Stunden auf. Dieser Vorgang erfolgt demnach ziemlich rasch.

a) Einfluß der Temperatur

Die Segmente wurden wieder wie oben beschrieben in Petrischalen gehalten. Es sei erwähnt, daß sie dabei auch ohne irgendwelche Vorichtsmaßnahmen steril blieben. Obwohl die Versuchsdauer einige Wochen betrug, zeigte sich keinerlei Pilz- oder Bakterienbefall. Die Segmente wurden bei Temperaturen von 4° , 18° und 28° C gehalten. Zunächst wurde am ersten Tag wieder jede Stunde untersucht, dann fortlaufend nach 6, 8 und 12 Tagen. Während die bei 18° und 28° gehaltenen Segmente bereits nach 9 Stunden suberinisiert waren, erfolgte diese bei 4° erst nach 12 Tagen, erfuhr also eine außerordentliche Verspätung (Abb. 1).

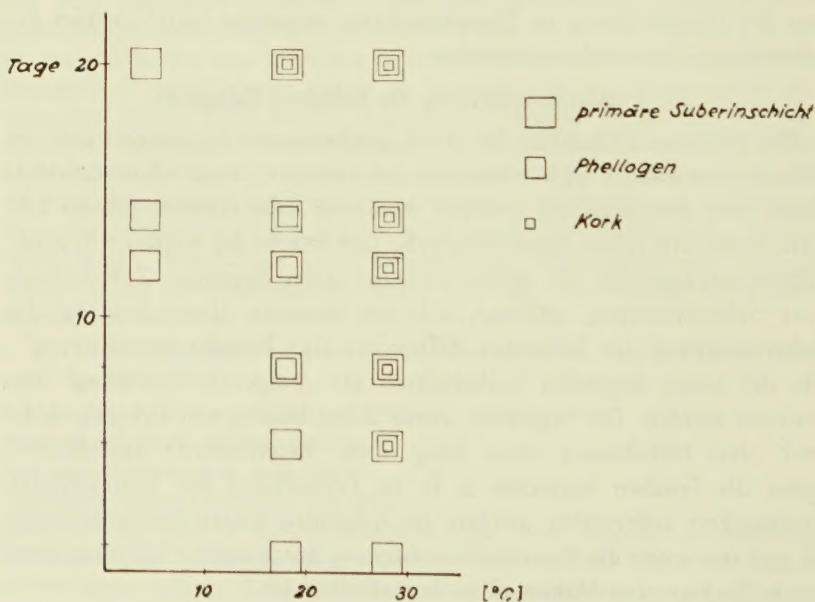


Abb. 1. Einfluß der Temperatur auf Primärsuberinisierung und Phellogenbildung.

Dieser Versuch zeigt, daß die Temperatur die Ausbildung der ersten Suberinsschicht wesentlich beeinflußt. Für die folgenden Untersuchungen wurden deshalb Temperaturschwankungen weitgehend vermieden.

b) Einfluß des Nährmediums und der α -Naphthylessigsäure

Wurden die Gewebestücke nicht in Petrischalen, sondern auf Nährlösung (SKOOG) ohne irgendwelche Zusatzstoffe gehalten, dann änderte sich dadurch zunächst gar nichts, die Primärsuberinisierung erfuhr weder eine Hemmung noch eine Förderung und erfolgte ebenfalls wie bei dem Petrischalenversuch nach 9 Stunden. Das gleiche war auch der Fall bei niederen und mittleren Gaben von α -Naphthylessigsäure (NAA) 0,005 — 3,0 mg/l. Bei höheren Konzentrationen (6,0 — 8,0 mg/l) trat jedoch eine deutliche Hemmung der Primärsuberinisierung ein, sie wurde durchschnittlich erst nach 3—5 Tagen sichtbar. 10 mg/l NAA schließlich führten zunächst zu einer Hypertrophie der äußersten Zellschicht, wie diese übrigens in geringem Ausmaß bereits bei 8 mg/l beobachtet wurde. Diese hypertrophen Zellen waren erst nach einer Woche suberinisiert. Mit zunehmender Konzentration der NAA wurde also die Primärsuberinisierung immer stärker verzögert.

c) Einfluß von Adenin, Guanin, Asparagin und Aminosäuren

Diese Stoffe können wegen ihres gleichartigen Verhaltens gemeinsam behandelt werden. Für die Adeninversuche wurden Konzentrationen von 10, 20, 30, 40 und 120 mg/l verwendet. Die Guaninmengen betrugen 1—4 mg/l; diese Substanz konnte jedoch auch in Salzform nicht völlig in Lösung gebracht werden, so daß Konzentrationsänderungen hier weitgehend nicht erfaßt werden konnten. Von den Aminosäuren Alanin und Arginin, sowie von Asparagin wurden jeweils 10 und 20 mg/l angewandt. Im Gegensatz zu den NAA-Versuchen ergab die histologische Untersuchung, daß bei diesen Stoffen keine Unterschiede in der Ausbildung der ersten Suberinsschicht auftraten. Konzentrationsänderungen spielten dabei ebenfalls keine Rolle, die erste sichtbare Suberinisierung trat wie bei den Kontrollkulturen immer nach 9 Stunden auf.

*d) Einfluß der Traumatinsäure *)*

*) Für die Überlassung dieser Substanz bin ich Herrn Prof. Dr. G. Hesse sehr zu Dank verpflichtet.

Verwendet wurde das leichtlösliche Kaliumsalz der Säure. Obwohl Traumatinsäure an den bisher untersuchten Objekten meist nur in ihrer Wirkung auf Zellteilungsvorgänge untersucht wurde, könnte man nach dem Potatotest von HABERLANDT (1913) auch damit rechnen, daß die Traumatinsäure eine der Substanzen ist, die für die Wundperidermbildung verantwortlich gemacht werden könnte. Ihre Wirkung auf Knollengewebe von Cyclamen sollte deshalb speziell unter diesem Gesichtspunkt eines möglichen Einflusses auf die Suberinisierung der äußersten Zellschicht untersucht werden.

Vier Versuchsreihen mit 20, 50, 100 und 200 mg/l Traumatinsäure wurden angesetzt. Sie ergaben, daß die Suberinisierung der äußersten Zellreihe durch Konzentrationserhöhung verzögert wurde. Während durch 20 mg/l Traumatinsäure gegenüber den Kontrollen kein Unterschied festzustellen war, erfolgte mit ansteigender Konzentration die Primärsuberinisierung immer später. Dieser Vorgang war dabei schon ohne Hilfsmittel am Auftreten der Braunfärbung der Segmente zu erkennen; Schnittfärbungen mit Sambesischwarz bestätigten dies. Diejenigen Segmente, die mit 100 und 200 mg/l behandelt wurden, zeigten zunächst schlauchförmig verlängerte Oberflächenzellen, die erst dann, nach etwa 8 Tagen suberinisierten.

Diese Befunde ähneln also sehr den Ergebnissen der NAA-Reihe. Hier wurde durch Konzentrationserhöhung ebenfalls die Primärsuberinisierung zugunsten der Pseudothallienbildung unterdrückt und trat entsprechend später auf.

Bevor die Suberinisierung der tiefer liegenden Parenchymzellschichten und ihre Abhängigkeit von äußeren Faktoren usw. besprochen wird, soll zunächst die Anlage des Phellogens, das ja zeitlich dieser Folge-suberinisierung vorausgeht, behandelt werden.

2. Anlage des Phellogens

Nach dem Suberinisierungsvorgang der äußersten Zellreihe erfolgte ganz allgemein die Anlage eines Phellogens. Innerhalb jeder Versuchsreihe war dabei die Zellschicht, in der das Phellogen entstand, weitgehend konstant, so daß sich, abgesehen von der zeitlichen Anlegung, auch Unterschiede in der räumlichen Lage des Phellogens mit Sicherheit erfassen ließen. Die Lage des Phellogens erfuhr lediglich an den Kan-

ten der Segmente eine Änderung, indem hier das Phellogen nicht mehr parallel zu den angrenzenden Zellflächen verlief, sondern eine deutliche Abrundung erfuhr. Nach SINNOTT und BLOCH erfolgt die Einstellung des Phragmosoms immer in Richtung des Wundverlaufs; an den Segmentecken dürften sich die Zellwände deshalb in Richtung der Resultante aus den beiden Wundrichtungen einstellen und damit die Rundung ausbilden. Diese wäre damit wohl erklärbar. Wenn gleichzeitig an den Ecken der Abstand zwischen Phellogen und Außenkante größer ist als an den Seitenflächen, dann könnte dafür evtl. die an den Ecken vermehrte Wundhormoneinwirkung verantwortlich sein. Ob das tatsächlich so ist, muß aber dahingestellt bleiben. Bei den folgenden Untersuchungen wurde jedenfalls diese Tatsache nicht berücksichtigt; zur Bestimmung der Lage des Phellogens wurden die Zellreihen jeweils nur von einer Fläche aus gezählt.

a) Einfluß der Temperatur

Nachdem sich die Suberinisierung der äußersten Zellreihe als temperaturabhängig gezeigt hatte, sollte auch eine mögliche Temperaturabhängigkeit der Phellogenbildung untersucht werden. Die Untersuchung verlief wie bei dem unter 1a) beschriebenen Versuch. Die Ergebnisse sind in Abb. 1 zusammengestellt, in der neben der Anlegung des Phellogens vergleichend auch noch die Temperaturabhängigkeit der Primärsuberinisierung eingezeichnet ist, die bereits im vorigen Abschnitt beschrieben wurde.

Die Temperaturversuche brachten folgendes Ergebnis: während die bei 18 ° gehaltenen Gewebestücke bereits nach 8 Tagen, jene bei 28 ° schon nach 5 Tagen ein Phellogen angelegt hatten, hatten die bei 4 ° aufbewahrten Segmente noch nach 20 Tagen kein Phellogen entwickelt. Die Anlegung des Phellogens war also bei 4 ° außerordentlich verzögert. Wann sie überhaupt eintrat, wurde nicht weiter untersucht. Wie eine zur Kontrolle vorgenommene Färbung mit 2, 3, 5-Triphenyltetrazoliumchlorid ergab, waren die betreffenden Segmente, wie nicht anders zu erwarten, noch lebend.

b) Einfluß der α -Naphthyllessigsäure

Was zunächst die zeitliche Anlegung des Phellogens betrifft, so erfolgte diese bei niederen und mittleren Konzentrationen von NAA

ziemlich gleichmäßig nach der für die Temperatur von 20°C charakteristischen Zeit von etwa 6–7 Tagen. Bei höheren Konzentrationen, also 8–10 mg/l wurde diese Zeitspanne — bei der gleichen Temperatur — jedoch auf etwa 5 Tage verkürzt. Zwischen Primärsüberinisierung und Phellogenanlage besteht also kein starrer zeitlicher Zusammenhang; die Zeitspanne zwischen beiden Vorgängen kann, wie etwa in dem vorliegenden Fall, durch wechselnde Konzentration von NAA beeinflusst werden.

Wesentlich stärker noch ist aber der Einfluß der NAA-Konzentration auf die räumliche Lage des Phellogens. Insgesamt wurden 7 Versuchsreihen mit Konzentrationen von 0,005; 0,4; 3,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0 mg/l NAA angelegt. Sie zeigten, daß das Phellogen mit zunehmender Konzentration von NAA immer weiter außen angelegt wird, wozu dann noch (wie später beschrieben wird) eine wechselnde Anzahl der vom Phellogen abgegebenen Korkzellreihen hinzukommt. So liegt es etwa nach einer Versuchsdauer von 8 Tagen bei den niederen Konzentrationen von 0,005 — 0,4 mg/l in einer Tiefe von etwa 4 Zellreihen, um bis zu der höchsten untersuchten Konzentration von 10 mg/l schließlich in der 1.—2. Zellreihe angelegt zu werden (Abb. 2). Die Abhängigkeit ist also außerordentlich stark.

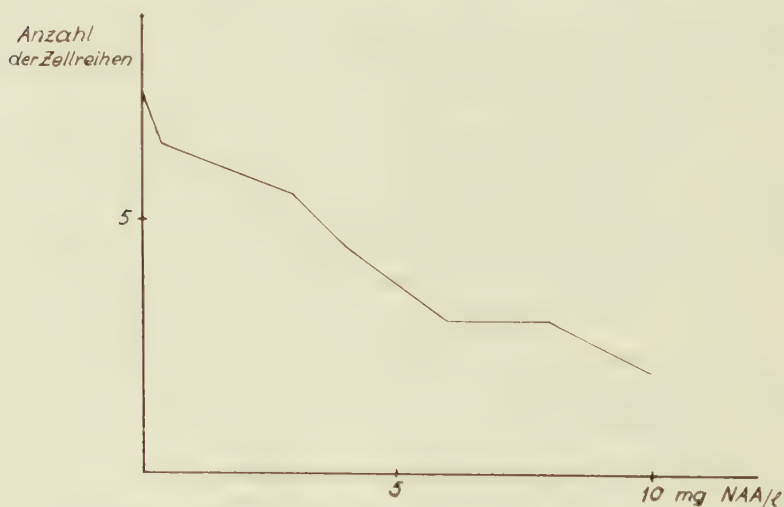


Abb. 2. Phellogentiefe durch verschiedene NAA-Konzentrationen nach 28 Tagen.

c) Einfluß von Adenin, Guanin, Asparagin und Aminosäuren

Da Eiweißabbauprodukte möglicherweise als Wundhormone wirken (HABERLANDT, BÜNNING) und dazu mindestens die Aminosäuren zu zählen sind, wurde die Wirkung dieser Stoffe, also Arginin, Alanin, sowie auch von Asparagin auch auf die Anlegung des Phellogens untersucht. Wegen ihrer ähnlichen Wirkung wurden außerdem auch noch Adenin und Guanin in die Untersuchung mit einbezogen.

Tatsächlich ergab sich auch, daß alle diese Stoffe eine starke und gleichmäßige Wirkung auf die Anlegung des Phellogens ausübten. Allgemein wurde bei Zugabe dieser Stoffe das Phellogen tiefer angelegt als bei den Kontrollen. Während es sich bei den letzteren in einer Tiefe von etwa 5 Zellreihen bildete, entstand es bei den vorliegenden Versuchsreihen durchschnittlich in einer Tiefe von 7 bis 10 Zellreihen unter der Oberfläche. Bemerkenswert war dann noch folgende Beobachtung, die ebenfalls bei allen Versuchsreihen mit Adenin, Guanin, Asparagin und den Aminosäuren gemacht wurde. Bei allen bisherigen Versuchen wurde das Phellogen auf allen Seitenflächen, gleichgültig, ob sie dem Substrat auflagen oder nicht, immer in derselben Tiefe angelegt. Bei diesen Versuchsreihen fiel jedoch auf, daß der Abstand des Phellogens von den Außenflächen nicht an allen sechs Flächen der gleiche war; er war immer an der dem Substrat aufliegenden Seite um etwa 3 Zellreihen größer als an den anderen Seitenflächen.

In den Adeninversuchen wurde die Anlage des Phellogens und seine Konzentrationsabhängigkeit noch näher verfolgt. Es kamen wieder Konzentrationen von 10, 20, 30, 40 und 120 mg/l zur Anwendung. Auffallenderweise zeigte sich keinerlei Einfluß einer wechselnden Konzentration auf die Anlegung des Phellogens, wie sie etwa bei den NAA-Versuchen aufgetreten war. Unabhängig von der Konzentration wurde das Phellogen immer im Abstand von durchschnittlich 7 (an der Segmentunterseite 10) Zellreihen von der Außenfläche angelegt.

3. Anlegung weiterer Phellogene

Bei den NAA- und Kontrollkulturen wurde stets nur die Ausbildung eines einzigen Phellogens beobachtet. Demgegenüber bildeten Segmente, die mit Adenin, Guanin, Asparagin und den beiden Aminosäuren behandelt wurden, mindestens 2 zusammenhängende Phellogene aus, zu

denen auch meist noch eine wechselnde Anzahl von mehr oder weniger zusammenhängenden Phellogenzellgruppen hinzukam, die jedoch zu keinem geschlossenen Periderm führten.

Im einzelnen ergab sich folgendes ziemlich einheitliche Bild: auf die Anlegung des ersten Phellogens wurden zunächst in einem Abstand von durchschnittlich 5 Zellreihen von diesem entfernt in dem tiefer liegenden Gewebe perikline Wände eingezogen; die daraus hervorgehenden teilungsfähigen Zellen schlossen aber nun nicht wie bei dem äußeren Phellogen zu einem lückenlosen Kambium zusammen, sondern bildeten lediglich einzelne Gruppen von teilungsfähigen Zellen, die durch gewöhnliche unveränderte Parenchymzellen voneinander getrennt waren. Dieser Vorgang der Bildung derartiger Phellogengruppen konnte sich

nun in ähnlicher Weise noch einmal, gelegentlich auch ein drittes Mal wiederholen.

Nach einer Versuchsdauer von 4 Wochen folgte darauf aber wieder die Anlegung eines geschlossen durchgehenden Phellogens, das sich nun in einer Tiefe von 15–20 Zellreihen befand, wobei wiederum, wie schon bei dem ersten Phellogen auch das zweite Phellogen an der dem Substrat aufliegenden Seitenfläche in größerer Tiefe angelegt wurde als an den übrigen Seiten (Abb. 3). Wie bei den vorigen Versuchen wurde auch bei dieser Versuchsreihe die Abhängigkeit der Phellogenbildung von der Konzentration des zugesetzten Adenins untersucht. Aber auch hinsichtlich der Anlage der weiteren Phellogene ergab sich kein Zusammenhang zwischen Adenin-

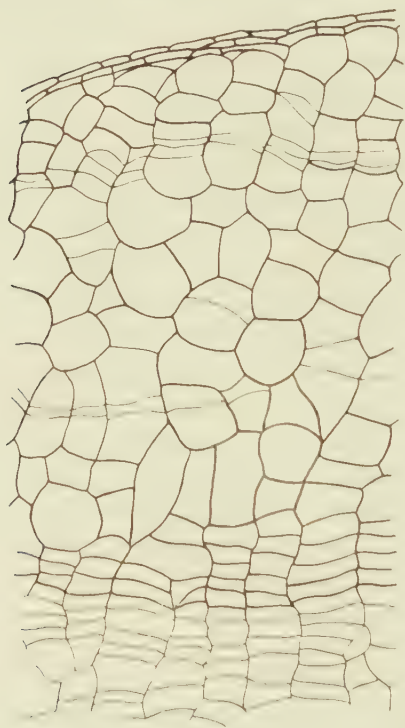


Abb. 3. Anlegung mehrerer Phellogene
(bei Einwirkung von Adenin, Guanin,
Asparagin und Aminosäuren).

konzentration und Phellogenbildung. Überdies erschwerte die unregelmäßige Lage der einzelnen Phellogengruppen in den aufeinanderfolgenden Schichten eine zahlenmäßige Erfassung etwa vorhandener Unterschiede.

4. Folgesuberinisierung

Durch die Anlage des Phellogens und seine weitere Tätigkeit wird, je nach der Tiefenlage des angelegten Phellogens eine wechselnde Zahl von Parenchymzellen von den übrigen lebenden Zellen des Segmentes abgetrennt und durch die Ausbildung des Korks aus den Phellogenzellen wird auch jede direkte Verbindung zwischen dem Segment und den Zwischenzellen unterbunden. Da außerdem auch die äußerste Zellschicht des ganzen Segmentes suberinisiert ist, sind diese Zwischenzellen zwangsläufig zum Absterben verurteilt. Ihr Absterben ist nun immer verbunden mit einer vorausgehenden Suberinisierung. Diese schreitet dabei von außen nach innen fort. Sie erfolgt jedoch nicht immer gleichmäßig; besonders bei stärkeren Parenchymzellagen bleiben einzelne Parenchymzellnester zunächst davon verschont und verkorken erst nachträglich.

Was den zeitlichen Beginn der Suberinisierung betrifft, so ist dieser zunächst einmal durch die Anlegung des Phellogens bestimmt. Aus allen Beobachtungen hat sich ergeben, daß die Zwischenzellen erst dann suberinisiert werden, wenn das Phellogen seine Tätigkeit aufgenommen hat. Insofern stellt die Bildung des Phellogens eine notwendige Voraussetzung für die Suberinisierung der Zwischenzellen dar. Eine feste zeitliche Beziehung zwischen dem Beginn der Suberinisierung und der Anlegung des Phellogens ließ sich jedoch wegen der großen Schwankungen nicht nachweisen. Den zeitlichen Verlauf der Suberinisierung zeigt Abb. 4, aus der das gleichmäßige Fortschreiten der Suberinisierung deutlich zu ersehen ist. Die Untersuchung wurde an Kontrollkulturen ausgeführt, wobei in Abb. 7 gleichzeitig auch die Peridermentwicklung mit eingezeichnet wurde.

Ob es sich bei den suberinisierten Zellen wirklich um Korksubstanz handelte und nicht nur um abgestorbenes Gewebe, das ja auch oft braun gefärbt ist, mußte natürlich noch durch entsprechende Färbung festgestellt werden. Die Färbung mit Sambesischwarz ergab jedoch dasselbe Bild, wie es etwa der Außenkork einer zweijährigen Cyclamenknolle zeigt und wie es im einzelnen bei der Besprechung der verwendeten Farbstoffe

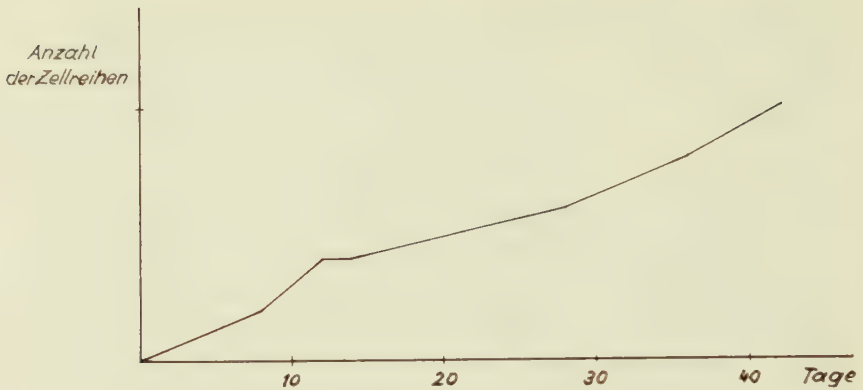


Abb. 4. Folgesuberinisierung im Kontrollversuch (zeitlicher Verlauf).

beschrieben wurde. Vergleichsfärbungen mit Sudan, Chlorzinkjod und Gentianaviolett-ammoniak ergaben dieselben Resultate. Den Färbungen nach konnte es sich also nur um Korksubstanz handeln. Die Schnitte wurden außerdem noch mit konzentrierter Schwefelsäure behandelt. Die Zellwände der Parenchymgewebezellen wurden dadurch sofort aufgelöst, während die verkorkten Wände dem Angriff der Säure widerstanden. Aus diesen Versuchen läßt sich mit Sicherheit sagen, daß die Zwischenzellen suberinisiert werden und anschließend natürlich absterben.

Wie die Primärsuberinisierung und auch die Phellogenbildung ist natürlich auch die Suberinisierung der Zwischenzellen temperaturabhängig. Während bei niederen Temperaturen von 4°C nach 20 Tagen noch nicht einmal ein Phellogen angelegt war und erst recht keine Suberinisierung der äußersten Zellreihe zu beobachten war, waren bei 18°C , wo das Phellogen bereits vorhanden war, neben der äußersten Zellreihe schon 2 Zellreihen der Zwischenzellen suberinisiert und schließlich bei 28°C etwa 3 Zellreihen suberinisiert.

Eine Abhängigkeit der Suberinisierung von der Konzentration der NAA ließ sich nur insofern erfassen, als eben in Abhängigkeit von der NAA-Konzentration ja die Lage des Phellogens und damit die Zahl der zu suberinisierenden Zellreihen variierte: während nach einer bestimmten Versuchsdauer die wenigen Zellreihen bei höheren Konzentrationen bereits vollständig suberinisiert waren, war dies bei der größeren Anzahl von Zwischenzellen bei den niederen Konzentrationen noch nicht der Fall. Der Verlauf der Suberinisierung ist hier in erster Linie bedingt durch die Zahl der für eine Suberinisierung in Frage

kommenden Zellen, und damit auch durch die Lage des Phellogens (Abb. 5).



Abb. 5. Folgesuberinisierung durch verschiedene NAA-Konzentrationen nach 28 Tagen.

Bei den Traumatinsäureversuchen wurde die Folgesuberinisierung nach einer Versuchsdauer von 24 Tagen untersucht. Diese Untersuchung zeigt, daß durch Konzentrationserhöhung ähnlich wie bei den NAA-Versuchen die Anzahl der suberinisierten Zellreihen abnimmt (Abb. 6).

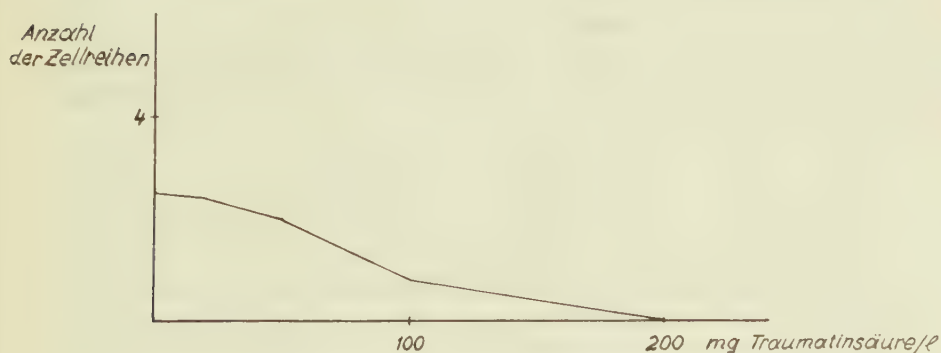


Abb. 6. Folgesuberinisierung durch verschiedene Traumatinsäurekonzentrationen nach 24 Tagen.

Bei den Versuchen mit Adenin, Guanin, Asparagin und den Aminosäuren liegen nun die Verhältnisse insofern anders, als wir es jetzt ja nicht mehr mit nur einer Phellogenschicht zu tun haben, sondern

mit zwei aufeinanderfolgenden Phellogenen. Zunächst beobachten wir, in völliger Übereinstimmung mit den bisherigen Versuchen, daß nach der Anlegung des ersten Phellogens die außerhalb dieses Phellogens gelegenen Zwischenzellen suberinisieren. Irgendwelche Unterschiede im Verlauf der Suberinisierung im Zusammenhang mit den verschiedenen Stoffen konnten dabei nicht festgestellt werden. Wenn nun das zweite Phellogen angelegt ist, dann befinden sich die zwischen dem ersten und zweiten Phellogen liegenden Parenchymzellen in Bezug auf das restliche Segment in genau derselben Lage, wie anfänglich die Zwischenzellen außerhalb des ersten Phellogens. Sie sind von jeder stofflichen Verbindung nach außen und innen abgeschlossen und wir beobachten demzufolge auch genau dieselbe Entwicklung: die zwischen den beiden Phellogen gelegenen Parenchymzellen erfahren ebenfalls eine Suberinisierung und sterben dann ab. Diese Suberinisierung schreitet im großen und ganzen von außen nach innen fort, es werden davon aber nicht alle Zellen gleichmäßig erfaßt; wir beobachten vielmehr, daß zwischen bereits suberinierten Zellen regelmäßig mehr oder weniger große noch parenchymatische Zellgruppen erhalten bleiben, die im weiteren Verlauf allerdings auch noch suberinisieren, bis schließlich das ganze zwischen den beiden Phellogen gelegene Parenchym suberiniert ist. Das zweite in einer geschlossenen Schicht durchgehende Phellogen führt, da es ja in einer ziemlichen Tiefe angelegt wird, zu einer entsprechend dicken Suberinschicht, die das ganze Segment umgibt, so daß sich im Innern des Segments oft nur noch eine kleine Gruppe von nicht suberinierten Parenchymzellen befindet.

5. Produkte des Phellogens

Das etwa eine Woche nach Versuchsbeginn angelegte Phellogen gibt in gewohnter Weise nach außen Kork und nach innen Phelloderm ab. Der zeitliche Verlauf der Phellogentätigkeit und das Verhältnis von Kork zu Phelloderm wurde an Kontrollkulturen im einzelnen untersucht. Nach 14 Tagen waren bereits 2 Zellreihen Kork und 3 Zellreihen Phelloderm gebildet worden. Nach weiteren 14 Tagen hatte sich der Kork auf 3–4, das Phelloderm auf 4 Zellreihen verstärkt; auch nach 42 Tagen war das Verhältnis dieser beiden Gewebe zueinander noch unverändert: es waren bis dahin durchschnittlich 5 Reihen Kork und 5 Reihen Phelloderm abgegeben worden. Bei den Kontrollen bildet das

Phellogen also, jedenfalls bis zu 42 Tagen nach Versuchsbeginn, gleichmäßig nach außen und innen Kork bzw. Phelloderm (Abb. 7).

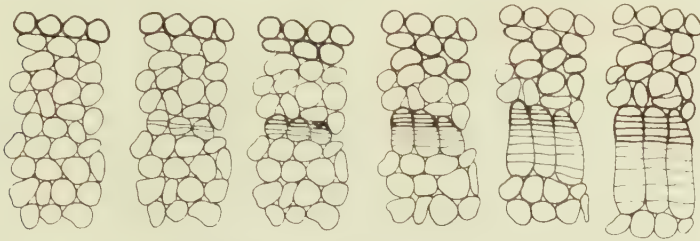


Abb. 7. Kontrollversuch (schematische Darstellung) suberinisierte und Korkzellen sind dick ausgezogen.

a) Einfluß der NAA

Die vielseitigen Wirkungen des Wuchsstoffes zeigten sich auch in seinem Einfluß auf die Tätigkeit des Phellogens. Die Wirkung der NAA wurde dabei wieder in der bereits aufgeführten Konzentrationsreihe untersucht. Bei niederen Konzentrationen, wo auch die Lage des Phellogens der der Kontrollen entspricht, zeigt auch die Tätigkeit des Phellogens weitgehende Übereinstimmung mit den oben beschriebenen Verhältnissen. Nach einer Versuchsdauer von 18 Tagen hatte das Phellogen Kork und Phelloderm in etwa gleicher Stärke abgegeben. Mit zunehmender Konzentration ändert sich nun aber (neben der Lage des Phellogens) auch das Verhältnis der beiden vom Phellogen abgegebenen Gewebe in der Art, daß mit zunehmender Konzentration der NAA die Ausbildung der Korkschicht immer mehr verringert wird zugunsten einer gesteigerten Phellodermbildung nach innen (Abb. 8 und 9).

b) Einfluß der Traumatinsäure

Genau so, wie mit steigender Traumatinsäurekonzentration das Phellogen immer weiter außen angelegt wird, so wird auch das Verhältnis von Kork zu Phelloderm mit steigender Konzentration zugunsten des Phelloderms verschoben. Insofern besteht völlige Übereinstimmung in der Wirkung von Traumatinsäure und NAA in dieser Hinsicht. Ein merklicher Unterschied zu den Versuchen mit NAA besteht jedoch darin, daß die Zahl der nach außen abgegebenen Korkschichten im Gegensatz zu vorhin nicht verringert wird, sondern immer

gleichbleibt, und daß nur das Phelloderm nach innen immer stärker ausgebildet wird.

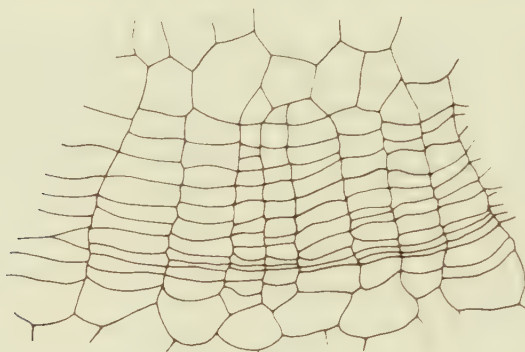


Abb. 8. Peridermentwicklung bei einer NAA-Konzentration von 6 mg/l (nach 24 Tagen).

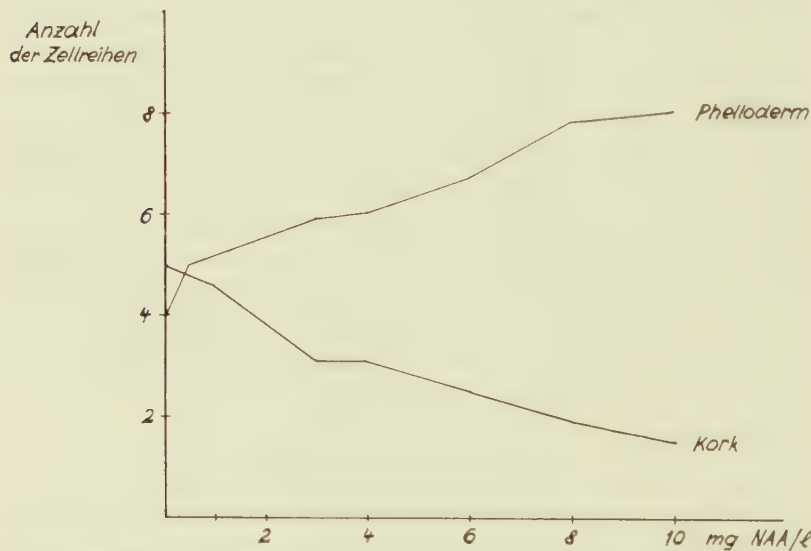
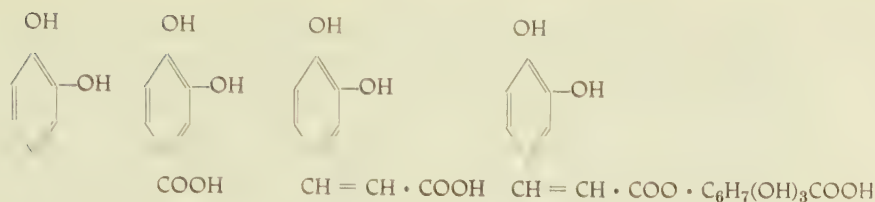


Abb. 9. Phelloderm- und Korkbildung durch verschiedene NAA-Konzentrationen nach 21 Tagen.

6. Die Wirkung der Chlorogensäure auf die Gewebestücke

In den letzten Jahren wurde festgestellt, daß Stoffe mit einer 1-2-Dioxybenzolgruppierung (siehe Formelreihe) fördernd auf die Korkbildung einwirken, indem sie die Polyphenolasen aktivieren.



Brenzcatechin Protocatechusäure Kaffeesäure Chlorogensäure

SIMONDS, JOHNSON und SCHAAAL haben insbesondere den einfachsten Stoff dieser Reihe, nämlich das Brenzcatechin, daneben aber auch noch Protocatechusäure, Kaffeesäure und Chlorogensäure in ihrer Wirkung auf Kartoffelknollengewebe untersucht und gefunden, daß die Verkorkung der verwundeten Zellen durch die Einwirkung dieser Stoffe rascher erfolgte als bei den Kontrollen, am ausgeprägtesten war dies der Fall bei Verwendung von Brenzcatechin.

Da sich die Suberinisierungs- und Korkbildungsprozesse an *Cyclamen persicum* durch Zugabe verschiedener Stoffe beeinflussen ließen, wurden deshalb auch noch mit der in der Pflanze natürlich vorkommenden Chlorogensäure Versuche angesetzt, um eine mögliche Wirkung auf diese Prozesse zu beobachten.

Zunächst jedoch wurden die Gewebestücke nach den Angaben von POLITIS und RUCKENBROD auf ihren natürlichen Gehalt an Chlorogensäure und Polyphenolasen getestet, um eine Vergleichsmöglichkeit mit den Ergebnissen an *Solanum tuberosum* zu haben. Der Chlorogensäuretest ergab nach 2-stündigem Einwirken von Eisen-3-chloridlösung eine dunkelgrüne Färbung; da aber dieser Test nicht spezifisch für Chlorogensäure ist, sondern auch auf andere Phenolabkömmlinge anspricht, ist damit allerdings kein sicherer Chlorogensäurenachweis gegeben. Der Polyphenolasentest, der bei Einwirken von Tyrosinsubstanz und positivem Ausfall eine Rotfärbung ergibt, blieb bei *Cyclamen persicum* auch nach einer Einwirkedauer von 3 Tagen negativ (eine leichte Braunfärbung an den Kanten der Gewebestücke entstand auch an den entsprechenden Blindproben und ist deshalb sicher nicht als positiv zu werten). Da aber auch bei der Untersuchung auf Polyphenolasen durch irgendwelche Hemmstoffe, z. B. Ascorbinsäure, der Tyrosintest gestört werden kann, ist auch der negative Ausfall nicht beweisend für ein tatsächliches Nichtvorhandensein von Polyphenolasen. Die zum Vergleich auch an den Kartoffelknollen vorgenommenen Tests ergaben nur eine leichte Grünfärbung durch Eisen-3-chloridlösung und eine starke Rotfärbung schon nach ein-stündigem Einwirken von Tyrosinsubstanz, wobei die unbehandelten Segmente keine Färbung zeigten.

Eine gewisse Schwierigkeit bei der Chlorogensäureverwendung liegt darin, daß sie beim Erhitzen der Nährlösung sehr leicht in ihre beiden Komponenten Kaffee- und Chinasäure aufspaltet. Man konnte dies an der Braunfärbung der Nährlösung leicht beobachten.

Für einen Vorversuch auf die Wirkung der Chlorogensäure wurden Segmente verwendet, die zunächst unter Einwirkung von 0.4 mg l NAA (nach einer Versuchsdauer von 16 Wochen) ein Periderm entwickelt hatten. Von diesen Stücken wurde nun unter sterilen Bedingungen das außerhalb des Phellogens gelegene Gewebe entfernt, so daß die Segmente nur noch das Phellogen und das angrenzende Phelloderm besaßen. In diesem Zustand wurden die Stücke dann in die neue Nährlösung mit Chlorogensäure eingelegt. Die Chlorogensäure wurde dabei in sterilem dest. Wasser gelöst und der Nährlösung nach der zweiten Sterilisation zugegeben. Die Nährlösung enthielt 650 mg l Chlorogensäure. 10 Tage nach dem Einlegen der Segmente wurden Schnitte hergestellt, die mit Sambesischwarz, zum Vergleich auch mit Sudan, Gentianaviolettammoniak und Chlorzinkjodlösung gefärbt wurden. Dabei ergab sich folgendes Bild: als erstes fiel auf, daß das Phellogen abgestorben war. Ob dieses Absterben auf eine direkte Schädigung der Phellogenzellen durch das Entfernen der Korksicht zurückzuführen ist, oder vielleicht auf die unmittelbare Einwirkung der Chlorogensäure, läßt sich nicht entscheiden. An den unmittelbar darunterliegenden Phellodermzellen waren jedoch zu diesem Zeitpunkt noch keine auffälligeren Veränderungen zu bemerken. Dagegen färbten sich die angrenzend an das Phelloderm liegenden Parenchymzellen mit Chlorzinkjodlösung braun. Auch bei Färbung mit Sambesischwarz, Sudan, weniger stark jedoch mit Gentianaviolettammoniak trat diese Zellreihe durch ihre stärkere Tingierung hervor. Bei den Kontrollen unterblieb diese Färbung in allen Fällen. Die Gewebestücke, bei denen die äußeren Zellschichten bis zu dem bereits angelegten Phellogen entfernt worden waren, verhielten sich also auffallend anders als eben frisch zurechtgeschnittene Segmente, indem bei ihnen nicht wie sonst üblich die äußerste Zellschicht suberinisiert wurde, sondern die äußerste Parenchymzellreihe des restlichen Segments unterhalb des erst sekundär gebildeten Phelloderms. Nach weiteren 36 Tagen hatte sich dann aber wieder ein neues Phellogen gebildet, und zwar in einer Tiefe von etwa 5 Zellreihen unterhalb der oben erwähnten suberinisierten Zellreihe

(unterhalb des ersten Phelloderms). Dieses Phellogen hatte seinerseits wieder nach außen 3—5 Zellreihen Kork und nach innen 5 Zellreihen Phelloderm abgegeben und nach weiteren 14 Tagen hatte sich die Korkschicht auf 7 Zellreihen verstärkt.

Eine neue Versuchsreihe wurde nun nicht mit so vorbehandelten Segmenten, sondern mit frisch geschnittenen Segmenten angesetzt und dabei die Chlorogensäurekonzentration variiert, indem der Nährlösung 100, 500 und 2000 mg/l Chlorogensäure zugesetzt wurden. Nach 10 Tagen hergestellte Schnitte zeigten nun grundsätzlich das gleiche Bild, wie es bisher bei allen übrigen Versuchen auch beobachtet wurde: die äußerste Zellschicht war suberinisiert, in einer gegenüber den Kontrollen um etwa 2 Zellreihen tiefer liegenden Schicht war ein Phellogen angelegt, das dann, wie Schnitte nach 14 bzw. 20 Tagen zeigten, sich hinsichtlich der Suberinisierung und Korkbildung genauso verhielt wie in den Kontrollen. Irgendwelche Unterschiede zwischen den einzelnen Konzentrationen der Chlorogensäure waren nicht zu bemerken. Auf diesen negativen Ausfall der Chlorogensäure hin wurden daher keine weiteren Versuche mehr angesetzt.

Ein Einfluß der Chlorogensäure war lediglich in den Versuchen mit den vorbehandelten Segmenten zu beobachten gewesen, wo durch die Chlorogensäure eine äußere Parenchymzellreihe suberinisiert wurde, während diese Suberinisierung bei den Kontrollen unterblieb.

Zusammenfassend kann also gesagt werden, daß bei *Cyclamen persicum* durch Chlorogensäure keine vermehrte Suberinisierung oder Korkbildung eintritt. Nach den Ergebnissen des Vorversuches ist es jedoch wahrscheinlich, daß die Verkorkung der Oberflächenzellen und damit der Wundverschluß schneller erfolgt als bei den Kontrollen.

7. Anlage der Organe

Die ersten Anzeichen einer Organbildung konnten in allen untersuchten Fällen immer erst bemerkt werden, nachdem das Phellogen bereits angelegt war und seine Tätigkeit aufgenommen hatte. Um den Verlauf der Organbildung in seinen Anfängen und vor allem, um evtl. vorhandene Unterschiede zwischen Sproß- und Wurzelanlage erfassen zu können, wurden die zu untersuchenden Segmente in den Nährlösungen herangezogen, die sich nach L. MAYER für Sproß- und Wurzel-

bildung als optimal erwiesen hatten. Für Sproßbildung waren es die 3 folgenden Stoffe und Stoffkombinationen:

- 1) NAA 0,005 mg/l,
- 2) Adenin 120 mg/l,
- 3) Guanin 1 mg + Arginin 100 mg + Ammoniumnitrat 100 mg/l.

Maximale Wurzelbildung wurde erreicht durch eine NAA-Konzentration von 3 mg/l.

Sproßanlagen

a) α -Naphthyllessigsäure 0,005 mg/l

Die Segmente hatten nach 8 Tagen bereits ein lückenloses Phellogen ausgebildet, das durchschnittlich je 3 Zellreihen Kork und Phelloderm abgegeben hatte. 15 Tage später hatte sich diese Phellodermsschicht auf das Doppelte verstärkt und nun konnte beobachtet werden, daß in einzelnen Gruppen von Parenchymzellen unmittelbar unterhalb des Phelloderms erste Zellteilungen auftraten (Abb. 10). Nach weiteren

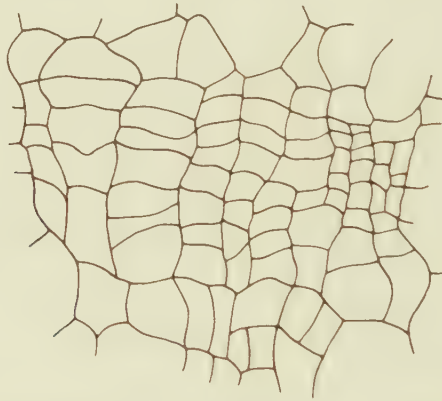


Abb. 10. Organanlage bei einer NAA-Konzentration von 0,005 mg/l (nach 24 Tagen).

14 Tagen hatte sich aus diesen Gruppen jeweils ein Teilungszentrum gebildet, das die darüberliegenden Phellogen- und Korkzellen bereits nach außen drängte. Von diesem meristematischen Zentrum aus setzten sich nach einer Gesamtzeit von 45 Tagen die Zellteilungen kreisförmig nach außen hin fort; es entstand so ein Komplex vieler kleiner, vom Zellkern fast erfüllter meristematischer Zellen, die die Korkschicht

schließlich durchbrochen und aus denen sich im weiteren Verlauf der Vegetationspunkt des jungen Sprosses herausdifferenzierte. Die ersten Anzeichen einer Differenzierung innerhalb dieses ganzen meristematischen Gewebekomplexes zeigten sich verhältnismäßig frühzeitig. Noch bevor der Kork durchbrochen wurde, wandelten sich einzelne von außen an den meristematischen Komplex angrenzende Parenchymzellen durch auftretende netzartige Wandverdickungen zu Leitungselementen um. Von diesen zunächst gebildeten Elementen ausgehend entstanden dann jeweils einzelne Gruppen von tracheidalen Zellen, die im weiteren Verlauf auch Spiralverdickungen aufwiesen. Schließlich traten zwischen diesen einzelnen getrennten Gruppen auch hin und wieder Querverbindungen auf. Von diesen zunächst außerhalb des eigentlichen Meristems gelegenen tracheidalen Gruppen setzte sich dann die Differenzierung der Leitungselemente auch in das Meristem selbst hinein fort und führte dann schließlich zu den die jungen Sproßanlagen durchziehenden Leitungsbahnen.

b) Adenin 120 mg/l

Während die ersten Anfänge der durch NAA induzierten Sproßanlagen erst nach 21 Tagen im Schnitt zu erkennen waren, traten bei der optimalen Adeninkonzentration von 120 mg/l schon nach 15 Tagen Teilungszentren auf, die wieder in den unmittelbar von den an das Phelloderm angrenzenden Parenchymzellen ihren Ausgang nahmen. Die Teilungsbereitschaft war demnach hier intensiver. Die weitere Ausbildung fand jedoch wie bei den NAA-Sprossen statt.

c) Guanin 1,0 + Arginin 100,0 + Ammoniumnitrat 100,0 mg/l

Während bei den NAA- und Adeninversuchen die Segmente ihre ursprüngliche Form und Größe weitgehend beibehielten, erfuhren sie durch die Kombination von Guanin, Arginin und Ammoniumnitrat eine starke Vergrößerung, die durch eine mächtige Entwicklung des Phellogen, verbunden mit maximaler Sproßbildung zustande kam. In den an das Phelloderm angrenzenden Parenchymzellen entstanden jetzt nämlich nicht mehr nur einzelne isolierte Teilungszentren, sondern dicht nebeneinander liegende Meristemgruppen, durch deren weiteres Wachstum die Korkschicht nicht nur an einzelnen Stellen durchbrochen, sondern direkt in mehr oder weniger großen Stücken hochgehoben

wurde. Die meristematischen Zellteilungen setzten sich durch das ganze Segment fort; durch die Einwirkung dieser Stoffkombination schien jede Parenchymzelle zur Teilung befähigt.

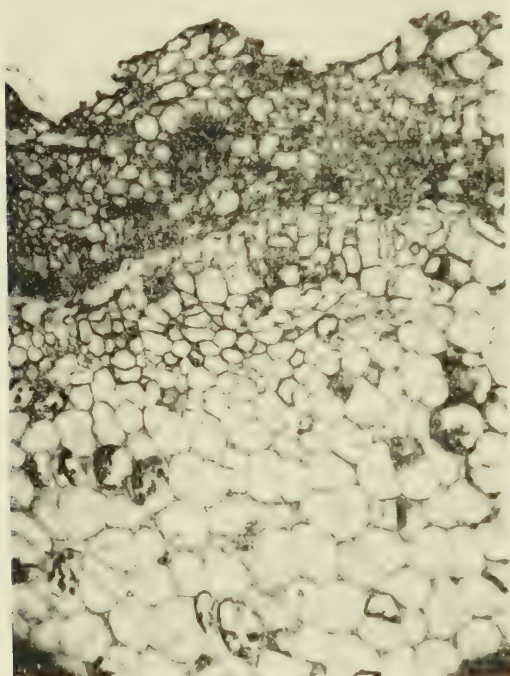


Abb. 11. Organanlage im Guaninversuch.

Die durch Guanin allein (1–5 mg/l) hervorgerufenen Sproßbildungen erfolgten in ähnlicher Weise wie bei dem vorhergehenden Versuch (Abb. 11). Die optimale Konzentration konnte jedoch ebenfalls nicht ermittelt werden, da wie bereits beschrieben, selbst das Salz nicht völlig in Lösung gebracht werden konnte. Eine Konzentrationsabhängigkeit konnte dementsprechend auch nicht beobachtet werden. Im Vergleich zu dem Kombinationsversuch war eine Verzögerung von einigen Tagen in der Sproßanlage festzustellen, woraus wieder die schon bekannte sproßfördernde Wirkung des Arginins erkennbar ist.

Wurzelanlagen

Die Wurzelbildung wurde an Segmenten, die mit der optimalen Konzentration von 3 mg/l NAA behandelt wurden, verfolgt. Die Gewebestückchen dieser Reihe zeigten, wie bereits im einzelnen beschrieben, nach 7 Tagen ein vollständiges Phellogen, das nahe der Oberfläche gebildet wurde. Von diesem wurden im Durchschnitt je 3 Kork- und Phellodermzellreihen abgegeben. Nach 21 Tagen hatte sich das Phellodermgewebe im Verhältnis zur Korkschicht verdoppelt bis verdreifacht. Jetzt erst entstanden die Wurzelanlagen in fast der gleichen Weise wie die Sproßanlagen. In den unter dem Phelloderm liegenden großen Parenchymzellen traten nämlich wieder einzelne Teilungen auf, die nach weiteren 7 Tagen zur Bildung von Zellgruppen führten, die sich durch die großen Zellkerne und die etagenkorkähnlichen Querteilungen deutlich vom umgebenden Gewebe unterschieden (Abb. 12).

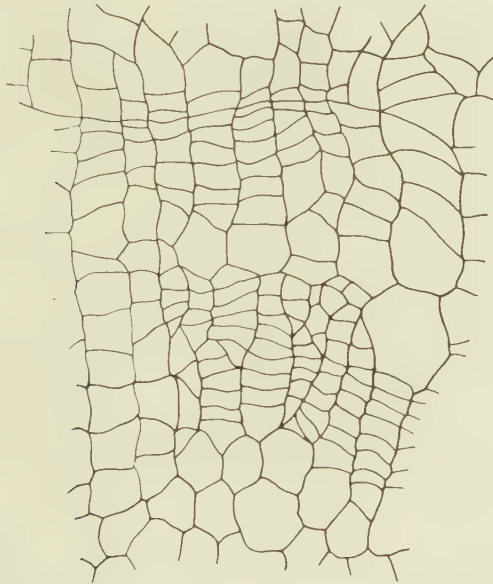


Abb. 12. Organanlage bei einer NAA-Konzentration von 3 mg/l (nach 21 Tagen).

Diese meristematischen Zellgruppen wurden von tracheidalen Elementen zunächst einzeln, dann in Gruppen umgeben. Diese Gefäße

zeigten anfänglich Netzstruktur, später Spiralverdickungen. Nach etwa 30 Tagen durchstieß dieser Komplex die Korkschicht (Abb. 13).



Abb. 13. Organanlage bei einer NAA-Konzentration von 3 mg/l (nach 24 Tagen).

Aus den eben beschriebenen Versuchen ist zu ersehen, daß sowohl die Wurzeln als auch die Sprosse unterhalb des Phelloderms angelegt werden. Die ersten Teilungen entstehen in den Parenchymzellen, die an das Phelloderm angrenzen. Bei beiden Organen entstehen zunächst in völlig gleicher Weise meristematische Gewebekomplexe, die anschließend von Gefäßelementen umgeben werden. Erst im Laufe der weiteren Entwicklung wurde die unterschiedliche Differenzierung in Sproß bzw. Wurzeln sichtbar.

Wenn die Wurzeln in geringerer Tiefe entstanden als die Sprosse, so ist das lediglich sekundär dadurch bedingt, daß im ersteren Falle das Phellogen weiter außen angelegt wurde als im letzteren. Dieser Unterschied in der räumlichen Anlage der Organe führt dann natürlich auch rein mechanisch zu dem immer wieder zu beobachtenden Bild.

daß nämlich die Wurzelanlagen die verhältnismäßig dünnen äußeren Gewebeschichten leichter durchstoßen können, als die tiefer angelegten Sproßanlagen, vor deren Erscheinen zunächst Risse in der äußersten Gewebeschicht sichtbar werden.

Daß die Entstehung von Wurzeln bzw. Sprossen bei anderen als den untersuchten Konzentrationen in grundsätzlich anderer Weise erfolgen würde als in den beiden besprochenen Fällen, erscheint sehr unwahrscheinlich; von einer eingehenderen Untersuchung in dieser Richtung wurde daher Abstand genommen.

Besprechung

Die Bildung eines Abschlußgewebes wurde in der Technik der Gewebezüchtung bisher nicht näher beschrieben, obwohl sie sicher auch bei anderen Untersuchungsobjekten oft auftritt. Die über Wundkorkbildung vorhandene Literatur diente deshalb mehr als Anregung für die ausgeführten Untersuchungen und die vorliegenden Ergebnisse sind mit jenen nur bedingt vergleichbar. Die meisten Versuche in ähnlicher Richtung finden sich bei *Solanum tuberosum*. Derartige Untersuchungen werden dabei meist von pathologischer Seite her unternommen, da das Periderm ja einen wirksamen Schutz gegen pflanzliche und zum Teil auch gegen tierische Schädlinge darstellt. Ziel solcher Arbeiten ist daher auch meist, die Bedingungen für eine möglichst rasche Bildung des Wundverschlusses aufzufinden. CZAJA, SIMONDS, PRIESTLY und APPEL verwendeten für ihre Untersuchungen an der Kartoffel Scheiben oder Knollenstücke und trugen darauf die betreffenden Stoffe in gelöster oder auch ungelöster Form auf. Zur Verhütung des Eintrocknens wurden diese Stücke dann in feuchter Atmosphäre, wie Petrischalen und dergleichen, aufbewahrt. Ein Nachteil dieser Methode liegt natürlich von vornherein darin, daß die nur kurzfristig untersuchten Gewebestücke während der Versuchsdauer aus ihrem Ruhezustand wohl kaum zu aktivem Wachstum übergehen. Die beobachteten Reaktionen können also durchaus von denen an aktivem Gewebe zu beobachtenden verschieden sein. Der Haupteinwand gegen die Versuchsanordnung an Kartoffelknollen besteht jedoch in der Anwendung von Stoffen in einer zweifellos unphysiologischen Form. Demgegenüber schien uns die Technik der Gewebezüchtung weit geeigneter zu sein.

Ihre Vorteile bestanden zunächst einmal darin, daß die Gewebestücke auf einem Nährmedium bekannter Zusammensetzung über eine wesentlich längere Versuchsdauer untersucht werden können. Da weiterhin mit der Gewebekultur stets auch ein Wachstum unter Neubildung von Zellen verbunden ist, können dadurch nicht nur die Reaktionen ruhender, sondern aktiver Zellen erfaßt werden. Vor allem aber ist bei dieser Methode die Möglichkeit gegeben, die auf ihre Wirksamkeit zu untersuchenden Stoffe in einer für die Pflanze wesentlich günstigeren Form und außerdem in genau angebbaren, abgestuften Mengen zur Anwendung zu bringen, so daß neben den qualitativen auch quantitative Aussagen gemacht werden können. Daß eine Untersuchung dieser Prozesse an der ganzen Pflanze demgegenüber höchstens zu ganz allgemeinen Resultaten führen kann, braucht kaum betont zu werden. Zwar ist die Untersuchung der Wundperidermbildung rein anatomisch auf diese Weise wohl möglich, aber die Schaffung einheitlicher, reproduzierbarer Bedingungen bereitet wohl kaum zu überwindende Schwierigkeiten, da eine Isolierung bestimmter Gewebe aus dem Verband der Gesamtpflanze eben nicht möglich ist. Neben den allgemeinen Vorteilen der Gewebekultur liegt dann ein weiterer Vorteil für die vorliegenden Fragen in der Wahl von *Cyclamen persicum* gegenüber *Solanum tuberosum*, da bei *Cyclamen persicum* die Anlage des Phellogens in verhältnismäßig tiefen Schichten erfolgt und die Lage des Phellogens in Abhängigkeit von den verschiedenen Stoffen sehr stark variiert. Es bestand dadurch die Möglichkeit, Reaktionsunterschiede viel genauer zu erfassen. Bei der Beurteilung der an *Cyclamen persicum* gewonnenen Ergebnisse ist allerdings zu bedenken, daß die durch das Schneiden freiwerdenden Wundhormone nicht durch Abspülen entfernt wurden, sondern in allen Fällen mit wirksam werden konnten.

Was nun die mit der Methode der Gewebezüchtung an *Cyclamen persicum* gewonnenen Ergebnisse betrifft, so soll zunächst die Suberinisierung *) von Parenchymzellen besprochen werden. Dieser Vorgang ist bei *Cyclamen* deshalb wesentlich genauer zu verfolgen als bei *Solanum*, da durch die Lage des Phellogens eine ziemlich dicke Schicht von Parenchymzellen nach außen abgetrennt wird, die schließlich alle suberiniert werden. Wir müssen dabei zwei Teilprozesse unterscheiden: einmal die Primärsuberinisierung der äußersten Zellreihe und zweitens

die Folgesuberinisierung der zwischen Phellogen und der äußersten suberinisierten Zellreihe liegenden Parenchymzellen.

*) Die Bezeichnung „Suberinisierung“ wird mit Absicht dem Wort „Verkorkung“ vorgezogen, um dadurch jegliche Verwechslung mit dem vom Phellogen abgegebenen Kork zu vermeiden.

Der Vorgang der Primärsuberinisierung wurde bereits von CZAJA, PRIESTLY und WOFFENDEN an *Solanum* beobachtet. (Eine Folgesuberinisierung ist bei *Solanum* aus anatomischen Gründen nicht vorhanden.) Sie stellten fest, daß dieser Vorgang der Suberinisierung der äußersten Zellschicht der Anlegung des Phellogens meist vorausgeht. Bei *Cyclamen* war dies ebenfalls der Fall: die Primärsuberinisierung war bereits nach 9 Stunden vollzogen (APPEL fand bei der Kartoffel eine Zeit von 12 Stunden), während die Anlegung des Phellogens frühestens nach 5 Tagen erfolgte. Die Primärsuberinisierung war dabei weitgehend unabhängig von den angewendeten Stoffen; eine Ausnahme bildeten nur die Kulturen, welche mit 10 mg/l NAA und 200 mg/l Traumatinsäure behandelt wurden. Während sonst nämlich die äußerste Parenchymzellschicht vor der Suberinisierung keine Veränderung erfuhr, wurden durch hohe NAA- und Traumatinsäuregaben die äußerste Parenchymzellreihe und gelegentlich auch die darunterliegende Zellreihe hypertroph. Erst nach Abschluß dieses offenbar durch diese Stoffe ausgelösten Wachstums erfolgte die Suberinisierung, die dadurch zeitlich hinausgeschoben wurde.

Die Folgesuberinisierung dagegen erfolgte erst nach der Anlegung des Phellogens. Grundsätzlich wurde dabei in allen Fällen ein gleicher Verlauf festgestellt. Die Suberinisierung der Parenchymzellen schritt von außen nach innen zu fort. Die zeitliche Dauer der Suberinisierung war dabei abhängig von der Dicke der Parenchymzellschicht und damit von der Lage des Phellogens. Je dicker die Parenchymzellschicht war, um so länger dauerte der Suberinisierungsprozeß. Mit der längeren Dauer des ganzen Prozesses bei größerer Schichtdicke war dann weiterhin auch noch eine gewisse Unregelmäßigkeit im Ablauf der Suberinisierung verbunden, indem in den tieferen Schichten vielfach einzelne Zellgruppen anfänglich ausgespart blieben, die erst später suberinisiert wurden. Daß die Folgesuberinisierung erst nach der Anlegung des Phellogens erfolgt, ist vielleicht damit zu erklären, daß durch den

vom Phellogen gebildeten Kork die außerhalb davon gelegenen Parenchymzellen mehr oder weniger isoliert werden und schließlich absterben. Durch diese Isolierung könnten nun in den Parenchymzellen Stoffwechselprozesse ablaufen, die schließlich zu ähnlichen oder gleichen Stoffen führen, wie sie auch in den verletzten Zellen der Wundränder entstehen und dort eine Suberinisierung auslösen.

Der zweite für die Bildung eines Abschlußgewebes wichtige Faktor ist dann neben der Suberinisierung von bereits vorhandenen Parenchymzellen die Neuanlegung eines Phellogens mit der Bildung von Kork und Phelloderm. Gerade bei dieser Frage zeigt sich nun die besondere Eignung von *Cyclamen persicum* gegenüber *Solanum tuberosum*, indem sowohl die Lage des Phellogens als auch die von diesem abgegebenen Produkte eine starke Abhängigkeit von den zugesetzten Stoffen zeigen. Was zunächst die Lage des Phellogens betrifft, so hatte an *Solanum tuberosum* bisher lediglich CZAJA beobachtet, daß durch die Einwirkung alkalisch reagierender Stoffe das Phellogen in der zweiten, durch Einwirkung sauer reagierender Stoffe bereits in der ersten Zellschicht unterhalb der verletzten Zellreihe erfolgt. Bei SIMONDS, JOHNSON und SCHAAL wurden derartige Vorgänge nicht beschrieben, jedoch ist aus den Abbildungen zu entnehmen, daß durch die Behandlung mit Brenzcatechin das Phellogen tiefer liegt als bei den Kontrollen. Demgegenüber sind die Unterschiede bei *Cyclamen persicum* wesentlich größer. Am eindrucksvollsten sind dabei die Versuche mit NAA. Während bei niedrigen Konzentrationen die Lage des Phellogens mit der der Kontrollen übereinstimmt und das Phellogen in einer Tiefe von etwa 4 Zellreihen angelegt wird, rückt es bei steigenden NAA-Konzentrationen immer weiter nach außen, um schließlich bei einer NAA-Konzentration von 10 mg/l in der ersten bis zweiten Schicht unterhalb der Schnittfläche angelegt zu werden. Während bei der Phellogenanlage der Unterschied zwischen der niedersten und der höchsten Konzentration also etwa 3 Zellreihen beträgt, wird er im weiteren Versuchsverlauf (nach etwa 4 Wochen) durch die verschieden starke Ausbildung der vom Phellogen abgegebenen Korkschicht auf durchschnittlich 5 Zellreihen erhöht.

Weniger ausgeprägt, dafür aber gerade in der entgegengesetzten Richtung, ist die Wirkung von Adenin, Guanin, Asparagin, Alanin

und Arginin. Bei diesen Stoffen wurde nämlich das Phellogen gegenüber den Kontrollen um zwei Zellreihen tiefer angelegt. Daß bei den Kontrollen der Adeninversuche das Phellogen in der fünften Zellreihe, bei den Kontrollen zu den NAA-Versuchen dagegen in der vierten Zellreihe angelegt wurde, beruht wohl darauf, daß beide Versuchsreihen zu verschiedenen Zeiten durchgeführt wurden. Aus anderen (noch nicht veröffentlichten) Beobachtungen hat sich nämlich der eindeutige Nachweis erbringen lassen, daß die Reaktionsfähigkeit von *Cyclamen persicum* im Verlauf eines Jahres starken Schwankungen unterliegt.

Wesentlich stärker dagegen ist die Wirkung von Adenin, Guanin, Asparagin und den beiden Aminosäuren in einer anderen Hinsicht, indem nämlich bei diesen Stoffen nicht nur wie üblich ein Phellogen, sondern in tieferen Schichten noch ein zweites Phellogen angelegt wird. Überdies kommt es vor der Anlegung dieses zweiten Phellogens in dem zwischen beiden liegenden Parenchymgewebe auch noch zur Bildung von mehr oder weniger umfangreichen, aber voneinander getrennten Phellogengruppen, die jedoch nicht zu einem lückenlosen Phellogen zusammenschließen. An der natürlichen Cyclamenknolle konnten derartige Erscheinungen nicht beobachtet werden. Nach Anlegung solcher sekundärer Phellogene erfolgte dann wieder Suberinisierung der abgetrennten Zellreihen, die wieder von außen nach innen zu fortschritt. Dabei wurden bei dem Suberinisierungsvorgang zunächst wieder einzelne Zellen ausgespart, die erst nachträglich suberinisierten, genauso wie es auch bei der Folgesuberinisierung der Parenchymzellen außerhalb des ersten Phellogens zu beobachten war, wenn nämlich diese Parenchymzellen eine entsprechend dicke Schicht bildeten.

Neben der Lage des Phellogens waren dann bei *Cyclamen persicum* weiterhin auch die vom Phellogen abgegebenen Produkte beeinflussbar. Hierüber liegen in der Literatur an dem einzigen in dieser Hinsicht untersuchten Objekt, nämlich der Kartoffel, keine Angaben vor, wenn man davon absieht, daß CZAJA keine Unterschiede findet. Bei Cyclamen waren diese jedoch sehr auffällig; die stärkste Reaktion war wieder bei den NAA-Versuchen zu beobachten, indem durch steigende Konzentrationen die Phellodermbildung gesteigert und die Korkbildung verhindert wurde. So betrug bei niederen Konzentrationen (wie auch bei

den Kontrollen) bei einer Versuchsdauer von 21 Tagen die Zahl der Korkzellen durchschnittlich 4 Zellreihen, die der Phellodermzellen ebenfalls 4 Zellreihen. Bei der höchsten angewandten Konzentration von 10 mg/l NAA waren demgegenüber nur mehr 1—2 Korkzellschichten gebildet, das Phelloderm dagegen hatte bis zu 8 Zellreihen zugenommen. Von ähnlicher Wirkung war auch die Traumatinsäure, indem bei höheren Gaben ebenfalls eine vermehrte Phellodermbildung beobachtet wurde; jedoch wurde durch die Traumatinsäure die Korkbildung nicht beeinflusst, sie blieb bei allen Versuchen dieselbe.

Zusammenfassend lassen diese Untersuchungen also erkennen, daß in erster Linie durch NAA, aber auch durch Adenin, Guanin, Asparagin und die beiden Aminosäuren sowie durch Traumatinsäure sowohl die Anlegung eines Phellogens als auch die von diesem abgegebenen Produkte sich außerordentlich beeinflussen lassen.

Neben den bereits beschriebenen Stoffen wurde nun auch noch Chlorogensäure in die Untersuchung mit einbezogen. Wie die bisherigen Versuche mit diesem Stoff zeigen, ist die Chlorogensäure am Aufbau der Korksubstanz wesentlich beteiligt. So zeigen auch die Versuche von SIMONDS, JOHNSON und SCHAAL, daß durch Chlorogensäure an Kartoffelknollenstücken die Wundkorkbildung gefördert wird. Wie die Tests auf Chlorogensäure und Polyphenolasen an *Solanum* erkennen ließen, enthält dieses Gewebe reichlich Polyphenolasen. Chlorogensäure dagegen nur in geringen Mengen. Daraus ist wohl die gute Ansprechbarkeit des Kartoffelknollengewebes auf Chlorogensäure zu fuhr zurückzuführen. Die entsprechenden Tests bei *Cyclamen persicum* fielen dagegen so aus, daß der Polyphenolasentest negativ, der Chlorogensäuretest aber stark positiv war. Wegen der Unspezifität beider Tests und wegen möglicher Störungen speziell des Polyphenolasentestes, etwa durch Ascorbinsäure, lassen sich aus dem Ausfall der Tests leider keine sicheren Schlüsse ziehen. Die an frisch geschnittenen Segmenten durchgeführten Versuche mit Chlorogensäure ergaben nun keine Unterschiede gegenüber den Kontrollen hinsichtlich Suberinisierung und Korkbildung, ein Ergebnis, das mit dem positiven Ausfall des Chlorogensäuretestes durchaus vereinbar ist. Die Versuche wurden daher auch nicht weiter fortgesetzt. Ein Einfluß der Chlorogensäure war dagegen bemerkbar in einem Vorversuch, zu dem jedoch nicht frisch geschnittene

Segmente verwendet wurden, sondern Segmente, die bereits unter der Einwirkung von 0,4 mg/l NAA nach 16 Wochen ein richtiges Periderm entwickelt hatten und von denen vor Beginn des Chlorogensäureversuchs das ganze Gewebe außerhalb des Phellogens entfernt worden war. In diesem Falle zeigte es sich, daß die an das Phellogerm angrenzende Parenchymzellschicht unter dem Einfluß der Chlorogensäure rascher suberinisierte als bei den Kontrollen.

Zeitlich der letzte Vorgang nach der Anlegung und Ausbildung des Abschlußgewebes war dann schließlich — sofern dafür überhaupt die notwendigen Voraussetzungen bestanden — die Anlegung von Organen. Da in keinem Fall davon eine Abweichung zu beobachten war, scheint bei *Cyclamen persicum* das Vorliegen eines Abschlußgewebes, jedenfalls eines Periderms, ebenfalls eine Voraussetzung für die Organanlage darzustellen. Sowohl die Anlage von Wurzeln, als auch die Anlage von Sprossen wurde im einzelnen untersucht. Als wesentliches Ergebnis hat sich dabei ergeben, daß sowohl in der Lage als auch in der ersten histologischen Differenzierung beide Vorgänge, soweit dies beobachtet werden konnte, keinerlei Unterschiede aufwiesen. Wurzeln wie Sprosse wurden unmittelbar unterhalb des vom Phellogen abgegebenen Phellogerms angelegt. Auch die weitere Differenzierung mit der Anlegung der Leitungselemente ließen keine Unterschiede erkennen. Erst nach dem Durchbrechen der Anlagen durch das Periderm war eine Differenzierung erfolgt.

Wenn schließlich als letztes noch der Einfluß der Temperatur auf die Ausbildung des Abschlußgewebes besprochen werden soll, so hatten schon MARSHALL und APPEL als Optimum für die Peridermbildung bei der Kartoffel, sowie MARSHALL für Gladiolenknollen eine Temperatur von 30 °C gefunden. Auch bei *Cyclamen* zeigte eine Temperatur von 28 °C günstige Wirkungen auf die Bildung des Abschlußgewebes. Ob diese Temperatur allerdings das Optimum darstellt, wurde nicht untersucht. Durch niedere Temperaturen, am ausgeprägtesten bei 4 °C, trat eine Verzögerung bis zu 20 Tagen schon in der Ausbildung der äußersten Suberinsschicht ein, ein Phellogen war zu diesem Zeitpunkt überhaupt noch nicht angelegt worden.

Während dieses letztere Ergebnis mehr oder weniger selbstverständlich ist, bereitet eine kausale Erklärung der übrigen bei den vorliegen-

den Untersuchungen gewonnenen Ergebnisse, speziell was die Abhängigkeit der Lage des Phellogens von stofflichen Faktoren betrifft, größte Schwierigkeiten. Es scheint kaum möglich, darüber einigermaßen konkrete Vorstellungen zu entwickeln. Diese Fragen müssen weiteren Arbeiten überlassen bleiben. Wesentlich ist zunächst wohl, daß überhaupt ein Objekt gefunden wurde, an dem diese Fragen experimentell angegangen werden können.

Zusammenfassung der Ergebnisse

Das an Cyclamenknollensegmenten entstehende Abschlußgewebe besteht aus suberinisierten, ursprünglich parenchymatischen Zellen und dem Periderm.

Die Entstehung dieses Abschlußgewebes, das Verhältnis der einzelnen Gewebearten untereinander, ihre Lage und Ausbildung wird dabei durch verschiedene Faktoren beeinflusst:

1. Zeitliche Abhängigkeit

Zunächst erfolgt Suberinisierung der äußersten Zellschicht; daraufhin wird das Phellogen angelegt, von dem ausgehend Kork- und Phellodermzellen gebildet werden. Anschließend suberinisieren die zwischen Kork und Außensuberin liegenden Parenchymzellen.

2. Temperatureinfluß

Durch Temperatursteigerung wird sowohl die Primärsuberinisierung und Peridermbildung, als auch die Folgesuberinisierung gefördert, während durch tiefere Temperaturen eine weitgehende Verzögerung eintritt.

3. Stoffliche Einflüsse

a) NAA: durch steigende NAA-Konzentrationen wird die Primärsuberinisierung verzögert, das Phellogen höher angelegt und damit die Schicht der sekundär suberinisierten Zellreihen dünner.

b) Adenin, Guanin, Asparagin und Aminosäuren: durch Einwirkung dieser Stoffe wird das Phellogen tiefer angelegt als bei den Kontrollen; außerdem erfolgt Anlage von Sekundärphellogen in noch größerer Tiefe, wodurch eine verhältnismäßig dicke Suberinschicht abgetrennt wird.

c) Traumatinsäure: ähnlich wie bei den NAA-Versuchen wird die Primärsuberinisierung durch Konzentrationssteigerung verzögert.

d) Chlorogensäure: im Vergleich zu den Kontrollen erfolgte die Primärsüberinisierung bei einer besonders vorbehandelten Versuchsreihe schneller.

4. Organanlage

Die Anlage von Sprossen und Wurzeln erfolgte unterhalb des Phellogen. Dabei traten zwischen der Anlage von Wurzeln und Sprossen keine grundsätzlichen Unterschiede auf.

Literaturverzeichnis

- APPEL, Otto: Zur Kenntnis des Wundverschlusses bei den Kartoffeln. Ber. dtsh. bot. Ges. **24**, 118—123 (1906).
- BLOCH, Robert: Woundhealing in higher plants II. Bot. Review **18**, 655—679 (1952).
- BONNER, J. and J. ENGLISH jr.: A chemical and physiological study of traumatin, a plant wound hormone. Plant Physiol. **13**, 331—348 (1938).
- BRIEGER, Friedrich: Untersuchungen über den Wundreiz. Ber. dtsh. bot. Ges. **42**, 79—90 (1924).
- BÜNNING, Erwin: Lehrbuch der Pflanzenphysiologie, dritte Auflage (1953) Berlin-Göttingen-Heidelberg.
- CAPITE, Luigi de: Action of light and temperature on plant tissue cultures in vitro. Amer. J. Bot. **42**, 869—873 (1955).
- CUNNINGHAM, H. S.: A histological study of the influence of sprout inhibitors on Fusarium infection of potato tubers. Phytopathology **43**, 95—98 (1953).
- CZAJA, A. Th.: Zur Entwicklungsphysiologie des Periderms: die Entstehung der Korkkrusten. Planta (Berlin) **23**, 105—145 (1934).
- CZAJA, A. Th.: Beobachtungen und Versuche zur Physiologie des Periderms und Wundperiderms. Ber. dtsh. bot. Ges. **66**, 211—219 (1953).
- HABERLANDT, G.: Zur Entwicklungsphysiologie des Periderms. Sitzber. preuß. Akad. Wiss. Phys. Math. Kl. **23**, 1—24 (1928).
- HÖHNEL, Franz von: Über Kork und verkorkte Gewebe überhaupt. Sitzber. Wien. Akad. Wiss. **76**, Abtlg. 1 (1877).
- JOHANSEN, Donald Alexander: Plant microtechnique. New York und London (1940).
- KELLER, Maria: Die Wirkung synthetischer Traumatinsäure auf verschiedene Pflanzengewebe. Ztschr. f. Bot. **45**, 1—38 (1957).
- KNY, L.: Über die Bildung des Wundperiderms an Knollen in ihrer Abhängigkeit von äußeren Einflüssen. Ber. dtsh. bot. Ges. **7**, 154—168 (1889).
- LAKON, Georg: Topographischer Nachweis der Keimfähigkeit. Ber. dtsh. bot. Ges. **60**, 299, 434 (1942).
- LIER, Frank G.: The origin and development of cork cambium cells in the stem of *Pelargonium hortorum*. Amer. J. Bot. **42**, 929—938 (1955).

- MADER, Hans: Untersuchungen an Korkmembranen. *Planta* (Berlin) **43**, 163—181 (1954).
- MARSHALL, Barton H. jr.: Relation of woundperiderm in *Gladiolus* corms to penetration by *Fusarium oxysporum* f. *Gladioli*. *Phytopathology* **43**, 425—431 (1953).
- MASON, H. S.: Comparative biochemistry of the phenolase complex. *Adv. Enzymol.* **16**, 105—184 (1955).
- MAYER, Lucie: Wachstum und Organbildung an in vitro kultivierten Segmenten von *Pelargonium zonale* und *Cyclamen persicum*. *Planta* (Berlin) **47**, 401—446 (1956).
- PAECH, K. und M. V. TRACEY: Moderne Methoden der Pflanzenanalyse. Berlin-Göttingen-Heidelberg (1956).
- PRIESTLY, J. M. and L. M. WOFFENDEN: Physiological studies in plant anatomy; causal factors in cork formation. *New Phytologist* **21**, 252—268 (1922).
- RUCKENBROD, Heidi: Untersuchungen über den Umsatz der Chlorogensäure in höheren Pflanzen. *Planta* (Berlin) **46**, 19—45 (1955).
- SHIROYA, Michi, Tsugio SHIROYA and Shizuo HATTORI: Studies on the browning and blackening of plant tissues; Chlorogenic acid in the leaves of *Nicotiana tabacum*. *Physiol. Plantarum* (Copenh.) **8**, 594—605 (1955).
- SIMONDS, Austin O., Gestur JOHNSON and L. A. SCHAAL: Comparative effects of catechol, some related compounds and other chemicals on suberisation of cut potato tubers. *Bot. Gaz.* **15**, 190—195 (1953).
- SINNOT, Ed. W. and R. BLOCH: Cell polarity and the differentiation of root hairs. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* **25**, 248—252 (1939).
- SORAUER, Paul: Handbuch der Pflanzenkrankheiten I, 6. Aufl. (1938).
- ULRICH, R.: Réaction des fruits aux blessures expérimentales. *Rev. gén. Bot.* **48**, 190 (1936).

Lebenslauf

Als Tochter des Ingenieurs GEORG KAUPPERT und seiner Ehefrau ANNY KAUPPERT, geb. HANSEN, wurde ich am 7. Juli 1930 in Nürnberg geboren. Ich besuchte dort vier Jahre lang die Volksschule und trat dann in die Mädchen-
oberschule an der Zeltnerstraße ein. Durch die Kriegseignisse wurden wir im Jahre 1944 gezwungen, unseren Wohnsitz nach Rückersdorf zu verlegen; es trat damit auch ein Schulwechsel an die Oberrealschule in Hersbruck ein. Im Sommer 1949 legte ich dort die Reifeprüfung ab. Da ich damals wegen der sehr geringen Zahl an Leihapotheken keine Praktikantenstelle erhielt, arbeitete ich ein Jahr lang als Praktikantin im Chemischen Institut des Städtischen Krankenhauses Nürnberg. Im nächsten Jahr wurde ich in die Apotheke des Städtischen Krankenhauses aufgenommen. Das zweite Praktikantenjahr absolvierte ich in der Hirschapotheke Nürnberg. Nach dem im Herbst 1952 abgelegten Vorexamen immatrikulierte ich mich im Wintersemester 1952/53 an der Universität Erlangen für das Fachgebiet Pharmazie. Im Sommer 1955 legte ich dort das Staatsexamen ab.

Im Wintersemester 1955/56 erhielt ich von Herrn Privatdozent Dr. E. HAUSTEIN eine wissenschaftliche Arbeit über „Histologische Untersuchungen über das Abschlußgewebe und die Organanlage an in vitro kultivierten Segmenten von *Cyclamen persicum*“. Bei ihm bekam ich auch am 6. 1. 1957 eine Stelle als technische Assistentin von der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

MARGARETE KAUPPERT
Rückersdorf/Mfr.
Strengenbergr 1

